

## Influencia de Rizobacterias en la Germinación y Vigor de Semillas de Chile jalapeño (*Capsicum annuum* L. 'var. Grande')

G. Nuncio-Orta<sup>1</sup>, R. Mendoza-Villarreal<sup>1,\*</sup>, V. Robledo-Torres<sup>1</sup>, M. Vázquez-Badillo<sup>1</sup> y J.J. Almaraz-Suárez<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Calzada Antonio Narro #1923, Colonia Buenavista, C.P. 25315. Saltillo, Coahuila, México

<sup>2</sup> Programa de Edafología. Colegio de Posgraduados. Carretera México – Texcoco km 36.5. Montecillo, C.P. 56230. Texcoco, Estado de México

### Resumen

Se aislaron cepas de *Azospirillum*, *Acetobacter* y *Azotobacter* sp. presentes en raíces de nopal, tomate y chile, las cuales fueron caracterizadas por su actividad nitrogenasa y producción de ácido indolacético. Las mejores fueron seleccionadas para evaluar su efecto en la germinación y vigor de semillas de chile jalapeño (*Capsicum annuum* L. 'var. Grande'). Se realizó la inoculación en semillas con diferente concentración de inóculo ( $10^4$ ,  $10^6$  y  $10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>) de cada cepa. Se usó un diseño experimental completamente al azar: 2 factores A) cepas y B) concentración de inóculo. La cepa AzTCH3 aislada de la rizósfera de chile de Torreón promovió 7% la germinación. La ganancia de biomasa fresca fue estimulada 20% por *Azotobacter* sp. AzoGN. La biomasa seca se favoreció mediante la cepa AzTT2 de *Azospirillum* sp. al inocular con dosis de  $10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>, la elongación radicular se incrementó un 32% con *Acetobacter* sp. AceTT aislada de tomate de Torreón. De acuerdo con la caracterización, la cepa aislada de la rizósfera de nopal AceGN2 de *Acetobacter* sp. produjo la mayor concentración de ácido indolacético, sin causar efecto significativo en el desarrollo vegetal. Por lo que, al realizar una correlación entre variables, ésta resultó positiva y se concluye que las rizobacterias nativas que presentaron potencial para estimular el crecimiento y desarrollo vegetal de semillas de chile jalapeño se debió a sus capacidades productoras de ácido indolacético y actividad nitrogenasa.

**Palabras clave:** Rizósfera, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Acetobacter*, *Capsicum annuum* L.

### Abstract

#### Influence of Rhizobacteria on Seed Germination and Vigor of Seeds Chili Jalapeno (*Capsicum annuum* L. 'var. Grande')

*Azospirillum* strains, *Acetobacter* and *Azotobacter* sp. were isolated from roots of prickly pear, tomato and pepper, and characterized according to nitrogenase activity and indoleacetic acid production. The best strains were selected to evaluate their effect on seed germination and vigor in jalapeño pepper (*Capsicum annuum* L. 'var. Grande'). Inoculation of seed was performed with different inoculum concentration ( $10^4$ ,  $10^6$  and  $10^8$  CFU mL<sup>-1</sup>) of each strain. A completely randomized design with two factors:

\* Autor para correspondencia: rosalingdamendoza@hotmail.com

<http://dx.doi.org/10.12706/itea.2015.002>

A) strains and B) inoculum concentration, was used. AzTCH3 strain isolated from the rhizosphere of pepper in Torreon, promoted 7% seed germination. Fresh biomass was stimulated 20% by *Azotobacter* sp. AzoGN. Dry biomass was favored by AzTT2 *Azospirillum* sp. inoculating dose of  $10^8$  CFU mL<sup>-1</sup>. Root elongation was increased 32% with *Acetobacter* sp. AceTT isolated the tomato of Torreon. According to the characterization, of the strains isolated from the rhizosphere of prickly pear (AceGN2), *Acetobacter* sp. showed the highest production of indoleacetic acid, causing no significant effect on plant development. So, a correlation between variables, it was positive and it is concluded that native rhizobacteria have potential to stimulate plant growth and seed development in jalapeño pepper was due to its production capabilities indoleacetic acid and nitrogenase activity.

**Key words:** Rhizosphere, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Acetobacter*, *Capsicum annuum* L.

## Introducción

La importancia socioeconómica del chile jalapeño (*Capsicum annuum*) radica en su alto consumo, rentabilidad y demanda de mano de obra (Macías et al., 2012). En México, ocupa una superficie aproximada de 29,495 hectáreas, con una producción de 772,889 toneladas (SIAP – SAGARPA, 2012). Sin embargo, dentro de las condiciones que se requieren para elevar la producción y rendimiento del cultivo se encuentra el uso de plántulas vigorosas y con un alto porcentaje de germinación (Carballo, 1992). Esto podría conseguirse con la inoculación de rizobacterias en semillas que promueven el crecimiento y desarrollo de plántulas (Vessey, 2003). De acuerdo con Shigueru-Okumura et al. (2013) la aplicación de inoculantes líquidos directamente en las semillas promueve cambios bioquímicos, fisiológicos y morfológicos en la célula vegetal e incrementa el potencial de crecimiento de las plantas. Por su parte, Di Barbaro et al. (2005) indican que la inoculación con rizobacterias en semillas de pimiento podría beneficiar a la planta desde la germinación, hasta un desarrollo posterior.

Las rizobacterias como *Azospirillum*, *Azotobacter* y *Acetobacter* sp. son llamadas bacterias promotoras de crecimiento vegetal (BPCV) porque incrementan la productividad y crecimiento de plantas (Ferrera - Cerrato y Alarcón, 2007) debido a la capacidad de fijar nitrógeno atmosférico (Camelo et al., 2011),

producir sideróforos (Whipps, 2001) y hormonas vegetales, como auxinas, giberelinas y citoquininas (Tsavkelova et al., 2006).

*Azospirillum* es un género muy estudiado debido a diversas propiedades como ser promotoras de crecimiento vegetal y tener capacidad para sintetizar ácido indolacético (AIA) a través de la vía del ácido indol-3-pirúvico (IPA) (Patten y Glick, 1996). De acuerdo a Pedraza et al. (2004), *Azospirillum* puede producir de 16,5 a 38 µg mL<sup>-1</sup> de ácido indolacético. Originar enzima nitrogenasa, ya que la inoculación con esta rizobacteria incrementa la germinación de semillas, ganancia de peso seco y contenido de nitrógeno en pimiento (Reyes et al., 2008), ya que con una concentración de  $10^8$  y  $10^9$  UFC mL<sup>-1</sup> se obtuvieron mejores respuestas en germinación, emergencia y desarrollo de plántulas (Di Barbaro et al., 2005), Mendoza et al. (2009) mencionan que la inoculación con  $10^9$  UFC mL<sup>-1</sup> aumenta el peso seco en plantas de pimiento morrón; también con cepas de *Azospirillum* sp. aisladas de maíz se ha reportado que producen de 8 a 70 nmoles de etileno debido a la actividad nitrogenasa (Carcaño-Montiel et al., 2006).

*Azotobacter* también tiene capacidad para fijar nitrógeno (Drummond et al., 1996), presenta un rápido crecimiento (Koksunan et al., 2013) y secreta sustancias biológicamente activas que aceleran el crecimiento y desarrollo de las plantas (Pogorelova et al., 2012). La producción de ácido indolacético en cepas

de *Azotobacter* sp. puede ser de 7 a 58  $\mu\text{g mg}^{-1}$  (Escobar et al., 2011). Lara-Mantilla et al. (2011) en un estudio con diferentes bacterias autóctonas de *Azotobacter* y *Azospirillum* encontraron que la mayor producción de auxina correspondió a la cepa *Azotobacter* sp., la cual incrementó la longitud de tallo en plántulas de pasto al ser inoculada con una concentración de  $1 \times 10^6$  UFC  $\text{mL}^{-1}$ .

*Acetobacter* es otro género de rizobacterias con capacidad para fijar nitrógeno atmosférico (Lee et al., 2000), como sucede en caña de azúcar ya que se reportan altas tasas de fijación de nitrógeno in vitro en cepas aisladas de raíces y tallos (Cavalcante y Dobereiner, 1988). Por otro lado, Suman et al. (2005) mencionan que *Gluconoacetobacter diazotrophicus* produce fitohormonas y tiene efecto positivo en la germinación y el crecimiento en plantas de caña de azúcar.

De acuerdo con lo anterior, la inoculación de rizobacterias en semillas contribuye a elevar

la germinación y crecimiento de plántulas, lo cual puede beneficiar los cultivos y reducir el uso de nutrientes químicos y la contaminación ambiental (Doria, 2010). El objetivo del presente estudio fue evaluar la germinación y vigor de semillas de chile jalapeño inoculadas con cepas de *Azospirillum*, *Acetobacter* y *Azotobacter* sp., aisladas de la rizósfera de plantas de nopal, tomate, chile y trigo.

## Materiales y métodos

Aislamientos de rizobacterias para la preparación de inoculante líquido

La investigación se llevó a cabo en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), en Saltillo, Coahuila, México. Se aislaron rizobacterias provenientes de la superficie e interior de raíces de nopal, tomate, chile y trigo (Tabla 1). Los medios de creci-

Tabla 1. Cepas nativas de *Azospirillum*, *Acetobacter* y *Azotobacter* sp, aisladas en tres localidades del estado de Coahuila, México  
Table 1. Native strains of *Azospirillum*, *Acetobacter* and *Azotobacter* sp., isolated on three locations of Coahuila, México

Clave	BPCV (sp.)	Cultivo	Localidad
AzGN3	<i>Azospirillum</i>	Nopal	General Cepeda
AzGT1	<i>Azospirillum</i>	Tomate	General Cepeda
AzTN5, AzTN7	<i>Azospirillum</i>	Nopal	Torreón
AzTCH3	<i>Azospirillum</i>	Chile	Torreón
AzTT2	<i>Azospirillum</i>	Tomate	Torreón
AzSTC-5	<i>Azospirillum</i>	Trigo	Saltillo
AceGN1, AceGN2	<i>Acetobacter</i>	Nopal	General Cepeda
AceTT	<i>Acetobacter</i>	Tomate	Torreón
AceTN	<i>Acetobacter</i>	Nopal	Torreón
AzoTN	<i>Azotobacter</i>	Nopal	Torreón
Azo GN	<i>Azotobacter</i>	Nopal	General Cepeda

BPCV = bacterias promotoras de crecimiento vegetal.

miento empleados fueron NFb (medio selectivo de nitrógeno) para *Azospirillum* sp., utilizando malato como fuente de carbono (Döbereiner et al., 1976). Para *Acetobacter* sp., se utilizó medio NFb, a pH ácido (4,5) para especies tolerantes y el medio Ashby complementado con manitol para cepas *Azotobacter* sp. (Bashan et al., 1993). Para la preparación de los inoculantes líquidos, las 13 cepas aisladas fueron sembradas en caldo nutritivo líquido y puesto en incubadora (Precisión Scientific 815) durante 7 días a 29° C para su multiplicación. La suspensión obtenida fue de  $1 \times 10^{10}$  UFC mL<sup>-1</sup> y a partir de ahí se prepararon las concentraciones de inóculo  $10^8$ ,  $10^6$ ,  $10^4$  UFC mL<sup>-1</sup> para cada una de las cepas.

#### Caracterización de rizobacterias

Las cepas fueron caracterizadas como promotoras de crecimiento vegetal debido a su actividad nitrogenasa y producción de ácido indolacético, las cuales fueron medidas (Tabla 2) mediante el método indirecto de la actividad reductora de acetileno (ARA). Las cepas se cultivaron en tubos con 4 mL de medio NFb semisólido por 4 días hasta que se formó una película de crecimiento bacteriano abajo de la superficie del medio. Cada tubo se cerró herméticamente y con una jeringa se extrajo el 10% del volumen de aire, que se substituyó con acetileno con la ayuda de otra jeringa. Los tubos se incubaron 24 h a temperatura ambiente; se tomaron muestras de 5 mL de la fase gaseosa de cada tubo y se depositaron en tubos al vacío. Las muestras se analizaron en un cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama (Hewlett 5890 Packard series II con columna Poraplot Q 25 m x 0,3 mm) para determinar la cantidad de etileno reducido.

Se cuantificó la producción de ácido indolacético (AIA) de las cepas, en el medio Luria-Bertani (LB), mediante el método colorimé-

trico con el reactivo Salkowski (Glickmann y Dessaux, 1995). Las cepas se cultivaron por 3 días en el medio líquido LB, se tomaron muestras de 1 mL y se centrifugaron 25 minutos (14,000 rpm), se tomó un alícuota de 150 µL de cada muestra y se depositaron en microplacas de 96 pozos; a cada uno se le adicionó 100 µL de reactivo Salkowski, se incubaron todas las microplacas en obscuridad por 30 minutos. Las lecturas de absorbancia fueron tomadas por medio de un espectrofotómetro con lector de microplaca (Synergy 2 microplate reader, Biotek instruments, Inc.) (Tabla 2).

#### Inoculación de rizobacterias en semillas de chile jalapeño

Para evaluar el potencial de las rizobacterias se realizó una prueba de germinación y vigor en semillas de chile jalapeño híbrido 'var. Grande', las cuales se lavaron utilizando alcohol al 70% y después con agua destilada. Se utilizaron 3 matraces de 125 mL, los cuales contenían diferente concentración de inóculo líquido  $10^8$ ,  $10^6$ ,  $10^4$  UFC mL<sup>-1</sup> de cada cepa, en cada matrás se colocaron 50 semillas durante 4 horas para llevar a cabo la imbibición. Se añadió un testigo sin inóculo, el cual solo fue tratado con agua destilada. Al término del tiempo de imbibición, las semillas se colocaron en cajas Petri esterilizadas, las cuáles contenían un disco de papel filtro como soporte.

#### Condiciones in vitro

Para evaluar el desarrollo de las semillas tratadas, las cajas Petri fueron llevadas a una Cámara de Germinación (Biotronette Mark II, Environment Chamber) donde permanecieron 14 días con temperatura de 28 °C, de acuerdo al ISTA (International Seed Testing Association) para el caso de especies *Capsicum*. El papel filtro de las cajas fue humedecido diariamente con agua destilada estéril.

Tabla 2. Comparación de medias de la actividad reductora de acetileno (ARA) y producción de ácido indolacético (AIA) de las rizobacterias en estudio  
 Table 2. Comparison of acetylene reduction activity (ARA) and indole acetic acid production (AIA) of studied rhizobacteria

Cepa	Actividad nitrogenasa <sup>1</sup> (nmolesC <sub>2</sub> H <sub>4</sub> · 1h <sup>-1</sup> · vial)	Indoles totales <sup>1</sup> (µg mL <sup>-1</sup> )
AzGN3	0,51 c	3,49 de
AzGT1	0,13 c	59,78 c
AzTN4	0,77 c	9,54 de
AzTN7	4,51 b	12,80 de
AzTCH3	1,15 c	84,14 bc
AzTT2	8,90 a	106,06 b
AzSTC-5	0,12 c	17,94 de
AceGN1	1,35 c	16,52 de
AceGN2	3,70 b	181,76 a
AceTT	1,17 c	71,89 c
AceTN	0,49 c	11,06 de
AzoTN	1,44 c	29,04 d
AzoGN	0,79 c	19,59 de
Testigo	0,14 c	0,00
C.V. % <sup>2</sup>	41,80	21,74

Medias con la misma letra dentro de la misma columna, son estadísticamente iguales (Tukey  $\alpha = 0,05$ ).

<sup>1</sup> Promedio de tres repeticiones. <sup>2</sup> Coeficiente de variación.

#### VARIABLES EVALUADAS

Las variables de respuesta fueron porcentaje de germinación siguiendo la metodología descrita por Moreno (1984), solamente se tomaron en cuenta las plántulas normales. El peso fresco y seco de plántulas se determinó mediante una balanza analítica (AND modelo HR – 200) y la longitud de raíz, hoja y tallo fueron estimadas con un vernier. Estas variables fueron registradas a los 14 días cuando finalizó el experimento.

#### DISEÑO EXPERIMENTAL

Se diseñó un experimento completamente al azar con arreglo factorial que incluye 2 factores (14x3) con tres repeticiones, donde los factores y sus niveles fueron: A) cepas (catorce niveles: descritos en la tabla 1) y B) concentraciones de inóculo (tres niveles: 10<sup>8</sup>, 10<sup>6</sup>, 10<sup>4</sup> UFC mL<sup>-1</sup>).

## Análisis estadístico

La comparación entre tratamientos se realizó mediante ANOVA con una prueba Tukey ( $p, \alpha \leq 0,05$ ) y para evaluar la correlación de los parámetros en estudio, se realizó una regresión múltiple con backward elimination para descartar los coeficientes no significativos; los modelos estimados contenían términos cuadráticos y cúbicos y, demostraron una relación entre variables. Los datos fueron procesados mediante el paquete estadístico SAS versión 9,1.

## Resultados y discusión

### Actividad de la nitrogenasa

En relación a la ARA se detectaron diferencias altamente significativas entre las cepas de *Azospirillum* sp. AzTT2 y AzTN7 (Tabla 2) aisladas de la rizósfera de tomate y nopal respectivamente; éstas presentaron 8,9 y 4,5 nmoles de etileno  $\cdot$  hora  $\cdot$  vial ( $C_2H_4 \cdot h^{-1} \cdot vial$ ). Por otro lado, la cepa *Acetobacter* sp. AceGN2 aislada de raíz de nopal, presentó 3,8 nmoles de etileno (Tabla 2). Estos valores son bajos en comparación con otros reportados por Mascara-Esparza et al. (1988) quienes aislaron cepas de *Azospirillum* de raíz de nopal, las cuales produjeron de 17,6 a 32,8 ( $C_2H_4 h^{-1} vial$ ). Carcaño-Montiel et al. (2006) obtuvieron valores de 8,62 a 70,08 ( $C_2H_4 h^{-1} mL^{-1}$ ) con cepas *Azospirillum* spp. aisladas de maíz. Las diferencias en la ARA entre rizobacterias podría deberse a que la enzima varía su función dependiendo de la especie vegetal donde se encuentra (Orozco-Jaramillo y Martínez-Nieto, 2009) y por otro lado, Eckert et al. (2001) mencionan que la cantidad de nitrógeno fijado depende probablemente al genotipo asociado con la bacteria.

### Producción de ácido indolacético

La producción de AIA fue mayor en las cepas de *Acetobacter* sp. AceGN2 aislada de raíz de nopal y la de *Azospirillum* sp. AzTT2 aislada de tomate (Tabla 2), con una producción de 181,76 y 106,06  $\mu g \cdot mL^{-1}$ , respectivamente. Estos resultados son superiores a los reportados por Lara-Mantilla et al. (2011) que obtuvieron niveles de ácido indolacético de 29,65  $\mu g mL^{-1}$  en cepas *Azospirillum* sp. Por otro lado, Fuentes-Ramírez et al. (1993) reportan que cepas de *Acetobacter diazotrophicus* aisladas de la superficie de raíz de caña de azúcar producen 0,14 - 2,42  $\mu g \cdot mL^{-1}$  de ácido indolacético y *Azospirillum brasiliense* Sp-7, produce 40,17  $\mu g mL^{-1}$  de ácido indolacético (Obando-Castellano et al., 2010). Éstas diferencias pudieran deberse al tipo de suelo donde fueron aisladas o la especie a cual pertenecen (Loredo-Osti et al., 2004). Por otro lado, Rengel (1997) menciona que la composición de los microorganismos del suelo varía de acuerdo a la especie o genotipo de la planta o a la cantidad y calidad de los exudados radicales.

### Germinación de semillas inoculadas con rizobacterias

De acuerdo con el análisis estadístico, las concentraciones de inóculo de las cepas no provocaron diferencias significativas en la germinación de semillas (Tabla 3), tampoco en la media general de las cepas hubo efecto significativo, según Tukey ( $P \leq 0,05$ ). Sin embargo, entre las cepas, se puede observar diferencia numérica en la media general por parte de la cepa *Azospirillum* sp. (AzTCH3) aislada de Chile en Torreón, que causó 7% más semillas germinadas a diferencia del Testigo, lo cual quiere decir que con cualquier concentración de inóculo, AzTCH3 incrementó la germinación en semillas de Chile jalapeño. Estos resultados coinciden con Di Barbaro et al. (2005) quienes reportan valores de germinación con 6,5%

Tabla 3. Efecto de la interacción de cepas y concentración de inóculo en el porcentaje de germinación de semillas<sup>1</sup> de chile jalapeño (*Capsicum annuum* 'var. Grande')  
 Table 3. Effect of bacterial inoculums concentration on seed germination percentage of (*Capsicum annuum* 'var. Grande')

Cepas	Concentración de inóculo (UFC mL <sup>-1</sup> )			Media
	10 <sup>4</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>	
AzGN3	73 B b	93 A a	73 B c	80 d
AzGT1	96 A a	93 A a	76 B bc	88 abcd
AzTN5	83 A ab	80 A a	90 A abc	84 bcd
AzTN7	86 A ab	86 A a	76 A bc	83 cd
AzTCH3	96 A a	96 A a	100 A a	97 a
AzTT2	90 A ab	96 A a	100 A a	95 abc
AzSTC-5	93 A ab	100 A a	96 A ab	96 ab
AceGN1	90 A ab	96 A a	93 A abc	93 abc
AceGN2	96 A a	90 A a	96 A ab	94 abc
AceTT	96 A a	93 A a	100 A a	96 ab
AceTN	96 A a	80 B a	93 AB abc	90 abcd
AzoTN	90 A ab	90 A a	93 A abc	91 abcd
AzoGN	96 A a	93 A a	93 A abc	94 abc
Testigo SN <sup>3</sup>	90 A ab	90 A a	90 A abc	90 abcd
Media	91	91	90	91
C.V.% <sup>2</sup>	7,29	6,39	10,07	8,46

<sup>1</sup> Promedio de tres repeticiones. <sup>2</sup> Coeficiente de variación; <sup>3</sup> sin inóculo. Dentro de una línea letras mayúsculas diferentes demuestran las diferencias de cada cepa con su concentración de inóculo (Tukey  $\alpha = 0,05$ ). Dentro de una columna, letras minúsculas diferentes demuestran diferencias de la concentración de inóculo para cada cepa (Tukey  $\alpha = 0,05$ ).

superior al testigo en semillas de pimiento inoculadas con cepas *Azospirillum brasilense*, también Molina et al. (2009) reportaron incrementos en la germinación de semillas de tomate al inocular cepas *Azospirillum* sp. a una concentración de 10<sup>9</sup> UFC mL<sup>-1</sup>.

Al no haber efecto significativo en la germinación, se procedió a realizar una correlación entre variables; se obtuvo un modelo que

indica una asociación entre la producción de ácido indolacético (AIA) y actividad nitrogenasa (ARA) de las cepas sobre la germinación de semillas: Germinación (%) = 86,5 + 0,548 AIA - 5,66 10<sup>-3</sup> AIA<sup>2</sup> - 7,39 10<sup>-5</sup> ARA<sup>3</sup> R<sup>2</sup> 0,512 P ≤ 0,05. En otros estudios también se ha demostrado que la producción de AIA de cepas bacterianas influye en el crecimiento vegetal (Ogata et al., 2008).

## Peso fresco de plántulas

Los resultados reflejaron diferencias significativas en la interacción de cepas y concentración de inóculo (Tabla 4). Cabe mencionar que las cepas AzGN3 ( $10^4$  y  $10^6$  UFC mL<sup>-1</sup>), AzGT1 ( $10^4$  y  $10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>), AzTN7 ( $10^4$  y  $10^6$  UFC mL<sup>-1</sup>), AceGN2 ( $10^4$  y  $10^6$  UFC mL<sup>-1</sup>) y AceTN ( $10^6$  UFC mL<sup>-1</sup>) no lograron provocar un mejor efecto en el peso fresco a diferen-

cia del Testigo; a pesar de esto la media general de las cepas con sus concentraciones (Tabla 4) indicaron diferencias estadísticas por parte de las cepas como la AzoGN que produjo 20% más peso fresco en plántulas en comparación con el Testigo, de acuerdo con esto la cepa *Azotobacter* sp. (AzoGN) aislada de nopal en General Cepeda puede ser utilizada con cualquiera de las concentraciones de inóculo estudiadas para inducir el incre-

Tabla 4. Efecto de la interacción de cepas y concentración de inóculo en el peso fresco<sup>1</sup> de plántulas de chile jalapeño (*Capsicum annuum* 'var. Grande')  
 Table 4. Effect of bacterial inoculum concentration on fresh weight of seedlings (*Capsicum annuum* 'var. Grande')

Cepas	Concentración de inóculo (UFC mL <sup>-1</sup> )			Media
	10 <sup>4</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>	
AzGN3	347 B f	475 AB b	525 A abcd	449 efg
AzGT1	362 B f	558 A ab	373 B cd	431 fg
AzTN5	433 A def	420 A b	360 A d	404 g
AzTN7	374 B ef	419 AB b	532 A abcd	442 fg
AzTCH3	570 A abcde	472 A b	438 A bcd	493 cdefg
AzTT2	477 AB cdef	600 AB ab	667 A a	581 bc
AzSTC-5	527 A abcdef	537 A ab	518 A abcd	527 bcdefg
AceGN1	583 A abcd	532 A ab	495 A abcd	537 bcdef
AceGN2	351 B f	478 AB b	566 A abc	465 defg
AceTT	693 A ab	565 A ab	636 A ab	631 ab
AceTN	643 A abc	454 B b	593 A ab	563 bcde
AzoTN	522 A bcdef	536 A ab	639 A ab	565 bcd
AzoGN	723 A a	726 A a	673 A a	707 a
Testigo SN <sup>3</sup>	586 A abcd	586 A ab	586 A ab	586 bc
Media	513	525	544	527
C.V.% <sup>2</sup>	25	15	18	22,27

<sup>1</sup> Promedio de tres repeticiones. <sup>2</sup> Coeficiente de variación; <sup>3</sup> sin inóculo. Dentro de una línea letras mayúsculas diferentes demuestran las diferencias de cada cepa con su concentración de inóculo (Tukey  $\alpha = 0,05$ ). Dentro de una columna, letras minúsculas diferentes demuestran diferencias de la concentración de inóculo para cada cepa (Tukey  $\alpha = 0,05$ ).

mento de esta variable, además Sethi y Adhikary *et al.* (2009) evaluaron también el efecto de *Azotobacter* en plantas de *Capsicum annuum* y observaron incrementos significativos en la producción de biomasa. Con respecto a las capacidades promotoras de las cepas si hubo relación y mediante el siguiente modelo se indica que la acumulación de biomasa estuvo asociada con la producción de AIA de la cepa,  $\text{Peso fresco (g)} = 0,512 + 4,779 \cdot 10^{-9} \text{AIA}^3$   $R^2 = 0,297$   $P \leq 0,05$ . Rodelas *et al.* (1999) mencionan que bacterias del género *Azotobacter* sp. sintetizan vitaminas y hormonas vegetales, lo cual podría contribuir a un mejor desarrollo vegetal. La cepa en estudio AzoGN presentó  $19,6 \mu\text{g mL}^{-1}$  de AIA (Tabla 2) dicha concentración fue óptima para elevar la acumulación de biomasa, como lo mencionan Loper y Schroth (1986) con bajas concentraciones de AIA existe mejor incremento el crecimiento vegetal.

#### Peso seco de plántulas

La variable peso seco presentó diferencias estadísticas según Tukey ( $P \leq 0,05$ ) con *Azospirillum* sp. (AzTT2) aislada de tomate de Torreón, esta cepa con la concentración de  $10^8$  UFC  $\text{mL}^{-1}$  incrementó la variable con 64% a diferencia del Testigo (Tabla 5). Algunos reportes como Molina *et al.* (2009) sugieren inocular cepas de *Azospirillum* sp. a una dosis de  $10^9$  UFC  $\text{mL}^{-1}$  en plantas de tomate para incrementar la materia seca. También, Molla *et al.* (2001) mencionan que *Azospirillum brasilense* produce grandes cantidades de AIA extracelular, lo cual favorece el contenido de materia seca en plantas, por otro lado, bacterias de este género aisladas de plantas de arroz sintetizaron  $38 \mu\text{g mL}^{-1}$  de AIA, lo que contribuyó a un incremento de biomasa (García *et al.*, 2010). A pesar de no haber diferencias estadísticas en el peso seco (Tabla 5), se puede reconocer que la cepa *Azospirillum* sp. AzTT2 indujo la ganancia de biomasa seca, debido probablemente a

que produjo  $106 \mu\text{g mL}^{-1}$  de AIA (Tabla 2). Esto es comprobado con el siguiente modelo:  $\text{Peso seco (g)} = 5,052 \cdot 10^{-2} + 8,177 \cdot 10^{-4} \text{AIA} - 3,563 \cdot 10^{-5} \text{AIA}^2 + 4,470 \cdot 10^{-9} \text{AIA}^3 - 2,22 \cdot 10^{-3} \text{ARA} + 1,580 \cdot 10^{-4} \text{ARA}^2 + 2,22 \cdot 10^{-6} \text{ARA}^3$   $R^2 = 0,760$   $P \leq 0,05$ , el cual indica una relación entre la producción de AIA y ARA de la cepa con respecto al incremento del peso seco en plántulas. En cuanto a la actividad nitrogenasa (ARA) cabe mencionar que las bacterias fijadoras de nitrógeno logran contribuir al incremento de biomasa vegetal (Lee *et al.*, 2000).

#### Desarrollo de plántulas

La variable longitud de raíz presentó diferencias estadísticas según Tukey ( $P \leq 0,05$ ) con la *Acetobacter* sp. (AceTT) aislada de tomate de Torreón, ésta cepa inoculada con las tres concentraciones de inóculo causó un incremento del 32% en longitud de raíz que el Testigo, este dato es observado en la media general por parte de las cepas (Tabla 6). Di Barbaro *et al.* (2005) confirman que el crecimiento radicular está relacionado con la producción de ácido indolacético y otras hormonas vegetales como citoquininas y giberelinas, estadísticamente esto ha sido comprobado mediante el siguiente modelo:  $\text{longitud de raíz (cm)} = 4,602 + 6,865 \cdot 10^{-2} \text{AIA} - 2,1 \cdot 10^{-3} \text{AIA}^2 + 2,141 \cdot 10^{-7} \text{AIA}^3$   $R^2 = 0,451$   $P \leq 0,05$ , que indica que la producción de ácido indolacético y la actividad nitrogenasa de la cepa influye en la ganancia de peso seco en plántulas en plántulas de Chile. La AceTT presentó baja actividad nitrogenasa (ARA), pero su producción de AIA es alta (Tabla 2), pero de acuerdo con el modelo anterior se demuestra la influencia de la cepa en la variable.

La cepa *Azospirillum* sp. (AzTT2) aislada de tomate de Torreón, logró incrementar significativamente la longitud de tallo en plántulas con la concentración de  $10^4$  UFC  $\text{mL}^{-1}$  (Tabla 7) por el contrario las demás concentraciones de la cepa no provocaron efecto positivo. Para

Tabla 5. Efecto de la interacción de cepas y concentración de inóculo en el peso seco<sup>1</sup> de plántulas de chile jalapeño (*Capsicum annuum* 'var. Grande')  
 Table 5. Effect of bacterial inoculum concentration on dry weight of seedlings (*Capsicum annuum* 'var. Grande')

Cepas	Concentración de inóculo (UFC mL <sup>-1</sup> )			Media
	10 <sup>4</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>	
AzGN3	38 A b	48 A ab	38 A b	42 b
AzGT1	44 A b	47 A ab	41 A b	44 b
AzTN5	47 A ab	42 A ab	45 A b	45 b
AzTN7	43 A b	43 A ab	40 A b	42 b
AzTCH3	67 A a	37 B b	44 B b	49 ab
AzTT2	47 B ab	55 B a	84 A a	62 a
AzSTC-5	48 A ab	51 A ab	54 Ab	51 ab
AceGN1	49 A ab	48 A ab	41 A b	46 b
AceGN2	47 A ab	43 A ab	51 A b	47 b
AceTT	53 A ab	53 A ab	53 A b	53 ab
AceTN	55 A ab	37 B b	47 AB b	46 b
AzoTN	48 A ab	51 A ab	52 A b	50 ab
AzoGN	55 A ab	48 A ab	54 A b	52 ab
Testigo SN <sup>3</sup>	51 A ab	51 A ab	51 A b	51 ab
Media	50	47	50	49
C.V.% <sup>2</sup>	14	12	23	16,34

<sup>1</sup> Promedio de tres repeticiones. <sup>2</sup> Coeficiente de variación; <sup>3</sup> sin inóculo. Dentro de una línea letras mayúsculas diferentes demuestran las diferencias de cada cepa con su concentración de inóculo (Tukey  $\alpha = 0,05$ ). Dentro de una columna, letras minúsculas diferentes demuestran diferencias de la concentración de inóculo para cada cepa (Tukey  $\alpha = 0,05$ ).

reafirmar lo obtenido Tr n Van et al. (2000) mencionan que la inoculación con *Azospirillum* sp. interviene en la fenología de plántulas como en el caso del longitud de tallo utilizando concentraciones óptimas de inóculo (Tr n Van et al., 2000). También, se puede mencionar que dicha variable fue promovida por la AIA y ARA de las cepas y es sustentado mediante el siguiente modelo: lon-

gitud de tallo =  $3,910 - 9,348^{10^{-2}} AIA + 1,02^{10^{-3}} AIA^2 - 1,965^{10^{-1}} ARA + 1,05^{10^{-2}} ARA^2 - 1,281^{10^{-4}} ARA^3$  R<sup>2</sup> = 0,620 P ≤ 0,05. La longitud de hoja en las plántulas no presentó diferencias estadísticas mediante la inoculación bacteriana en el estudio. Sin embargo, se ha demostrado un efecto significativo en la variable longitud de hoja al inocular *Azospirillum* spp. en semillas de trigo duro a una

Tabla 6. Efecto de la interacción de las cepas y concentración de inóculo en la variable longitud de raíz<sup>1</sup> de plántulas de chile jalapeño (*Capsicum annuum* 'var. Grande')  
 Table 6. Effect of the bacterial inoculums concentration on root-length of seedlings of (*Capsicum annuum* 'var. Grande')

Cepas	Concentración de inóculo (UFC mL <sup>-1</sup> )			Media
	10 <sup>4</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>	
AzGN3	48,03 A abcd	47,50 A abc	50,03 A a	48,52 bcd
AzGT1	40,43 B cd	56,70 A abc	46,66 AB a	47,93 bcd
AzTN5	47,63 A abcd	57,36 A abc	50,03 A a	51,67 abc
AzTN7	42,66 A bcd	50,10 A abc	46,36 A a	46,37 bcd
AzTCH3	55,66 AB abc	61,66 A ab	44,63 B a	53,98 abc
AzTT2	52,00 A abcd	58,00 A abc	46,66 A a	52,22 abc
AzSTC-5	58,33 A ab	51,10 A abc	57,30 A a	55,57 ab
AceGN1	39,66 A cd	46,10 A bc	48,00 A a	44,58 cd
AceGN2	38,16 A d	43,36 A c	43,00 A a	41,51 d
AceTT	61,06 A a	63,86 A a	54,23 A a	59,72 a
AceTN	39,66 B cd	48,46 AB abc	58,00 A a	48,71 bcd
AzoTN	48,76 A abcd	52,33 A abc	51,66 A a	50,92 abcd
AzoGN	51,96 A abcd	53,14 A abc	50,43 A a	51,84 abc
Testigo SN <sup>3</sup>	45,22 A abcd	45,22 A bc	45,22 A a	45,22 cd
Media	47,67	52,78	49,19	49,91
C.V.% <sup>2</sup>	15	12	9,28	17,60

<sup>1</sup> Promedio de tres repeticiones. <sup>2</sup> Coeficiente de variación; <sup>3</sup> sin inóculo. Dentro de una línea letras mayúsculas diferentes demuestran las diferencias de cada cepa con su concentración de inóculo (Tukey  $\alpha = 0,05$ ). Dentro de una columna, letras minúsculas diferentes demuestran diferencias de la concentración de inóculo para cada cepa (Tukey  $\alpha = 0,05$ ).

concentración de 10<sup>6</sup> UFC mL<sup>-1</sup> (Rojas-Méndez et al., 2009). Al respecto, se puede mencionar que la inoculación con rizobacterias propicia el desarrollo vegetal, puede esti-

mular la elongación radicular y mejorar el crecimiento de algunas variables, mediante su capacidad promotora de crecimiento (Fuentes-Ramírez et al., 1993).

Tabla 7. Efecto de la interacción de cepas y concentración de inóculo en la variable longitud de tallo<sup>1</sup> de plántulas de chile jalapeño (*Capsicum annuum* 'var. Grande')  
 Table 7. Effect of the interaction of strains and inoculum concentration in the variable length of stalk in jalapeno pepper seedlings (*Capsicum annuum* 'var. Grande')

Cepas	Concentración de inóculo (UFC mL <sup>-1</sup> )			Media
	10 <sup>4</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>	
AzGN3	22,60 A ab	20,83 A a	21,33 A abc	21,58 ab
AzGT1	20,06 A b	22,20 A a	21,66 A abc	21,31 ab
AzTN5	18,16 A b	20,33 A a	19,33 A bc	19,27 bc
AzTN7	20,66 A b	22,46 A a	21,66 A abc	21,60 ab
AzTCH3	20,33 A b	20,00 A a	23,33 A ab	21,22 ab
AzTT2	28,66 A a	22,00 B a	24,66 B a	25,11 a
AzSTC-5	19,30 A b	19,96 A a	19,56 A abc	19,61 bc
AceGN1	19,33 A b	20,16 A a	21,00 A abc	20,16 bc
AceGN2	19,00 A b	21,13 A a	20,90 A abc	20,34 bc
AceTT	20,03 A b	20,10 A a	18,56 A bc	19,66 bc
AceTN	21,00 A b	20,00 A a	19,33 A bc	20,11 bc
AzoTN	17,83 A b	17,46 A a	18,50 A bc	17,93 c
AzoGN	18,33 A b	18,23 A a	17,23 A c	17,93 c
Testigo SN <sup>3</sup>	21,00 A b	21,00 A a	21,00 A abc	21,00 b
Media	20,52	20,44	20,50	20,49
C.V.% <sup>2</sup>	13,17	7	10	12,95

<sup>1</sup> Promedio de tres repeticiones. <sup>2</sup> Coeficiente de variación; <sup>3</sup> sin inóculo. Dentro de una línea letras mayúsculas diferentes demuestran las diferencias de cada cepa con su concentración de inóculo (Tukey  $\alpha = 0,05$ ). Dentro de una columna, letras minúsculas diferentes demuestran diferencias de la concentración de inóculo para cada cepa (Tukey  $\alpha = 0,05$ ).

Tabla 8. Efecto de la interacción de cepas y concentración de inóculo en la variable longitud de hoja<sup>1</sup> de plántulas de chile jalapeño (*Capsicum annuum* 'var. Grande')  
 Table 8. Effect of the interaction of strains and inoculum concentration in the variable length leaf jalapeno seedlings (*Capsicum annuum* 'var. Grande')

Cepas	Concentración de inóculo (UFC mL <sup>-1</sup> )			Media
	10 <sup>4</sup>	10 <sup>6</sup>	10 <sup>8</sup>	
AzGN3	16,00 A de	16,00 A de	17,00 A abc	16,30 de
AzGT1	12,30 B f	16,40 A cde	12,50 B d	13,70 f
AzTN5	15,26 A ef	17,00 A abcde	16,30 A bc	16,20 de
AzTN7	14,36 A ef	15,00 A e	15,70 A cd	15,00 ef
AzTCH3	21,66Aab	19,33 B abc	19,33 B ab	20,10 a
AzTT2	22,33 A a	18,33 B abcd	20,33 AB a	20,33 a
AzSTC-5	18,66 A bcd	16,30 B cde	17,63 AB abc	17,53 cd
AceGN1	15,10 A ef	15,83 A de	17,80 A abc	16,52 de
AceGN2	14,66 B ef	16,50 AB bcde	17,73 A abc	16,30 de
AceTT	19,80 A abc	20,00 A a	19,00 A ab	19,60 ab
AceTN	20,00 A abc	19,06 A abcd	18,00 A abc	19,02 abc
AzoTN	17,46 A cde	16,90 A abcde	17,76 A abc	17,37 cd
AzoGN	17,00 B cde	19,80 A ab	17,43 B abc	18,10 bcd
Testigo SN <sup>3</sup>	19,60 A abc	19,60 A abc	19,60 A ab	19,61 ab
Media	17,53	17,50	17,63	17,55
C.V.% <sup>2</sup>	17,13	10	1	14,25

<sup>1</sup> Promedio de tres repeticiones. <sup>2</sup> Coeficiente de variación; <sup>3</sup> sin inóculo. Dentro de una línea letras mayúsculas diferentes demuestran las diferencias de cada cepa con su concentración de inóculo (Tukey  $\alpha = 0,05$ ). Dentro de una columna, letras minúsculas diferentes demuestran diferencias de la concentración de inóculo para cada cepa (Tukey  $\alpha = 0,05$ ).

## Conclusiones

La germinación de semillas de chile fue optimizada al inocular la cepa *Azospirillum* sp. (AzTCH3) aislada de raíces de tomate de Torreón, Coahuila. La biomasa de plantas se incrementó con las cepas *Azotobacter* sp. (AzoGN) y *Azospirillum* sp. (AzTT2) aisladas de nopal de General Cepeda y tomate de Torreón, respectivamente. El crecimiento de raíz y tallo fue favorecido con *Azospirillum* sp. (AzTT2) al presentar aumentos considerables. El desarrollo vegetal se incrementó por efecto de varias cepas y cabe mencionar que la concentración de inóculo no fue una limitante para obtener resultados positivos.

Se comprobó la relación del desarrollo vegetal de las semillas con la producción de ácido indolacético y actividad nitrogenasa de las cepas, por lo tanto este estudio permite identificar rizobacterias nativas con potencial para estimular el crecimiento y desarrollo vegetal de semillas de chile jalapeño.

## Bibliografía

- Bashan Y, Holguin G, Lifshitz R (1993). Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria. In: Methods in plant molecular biology and biotechnology. (Eds. Glick, BR, Thompson JE) pp. 337-338. Vol. 384 pp 1° edition. Ed. CRC. Press, Inc.
- Camelo M, Vera SP, Bonilla RR (2011). Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. Revista Corpoica – Ciencia y Tecnología Agropecuaria 12: 159-166.
- Carballo CA (1992). La calidad genética y su importancia en la producción de semillas. En: Situación actual de la producción, investigación y comercio de semillas en México. (Eds Mendoza OL, Favela CE, Cano RP, Esparza M J H). Memoria tercer Simposium, Torreón, Coahuila, México. pp. 80-101.
- Carcaño-Montiel MG, Ferrera-Cerrato R, Pérez-Moreno J, Molina-Galán JD, Bashan Y (2006). Actividad nitrogenasa, producción de fitohormonas, sideróforos y antibiosis en cepas de *Azospirillum* y *Klebsiella* aisladas de maíz y teocintle. Revista TERRA Latinoamericana 24: 493-502.
- Cavalcante VA, Dobereiner J (1988). A new acid-tolerant nitrogen-fixing bacterium associated with sugar cane. Plant and Soil 108: 23-31.
- Di Barbaro G, Pernasetti S, Stegmayer A (2005). Evaluación del efecto de *Azospirillum brasiliensis* en la germinación y emergencia del pimiento pimentonero (*Capsicum annuum* L. Var. trompa de elefante). Revista del CIZAS 6: 74-85.
- Döbereiner J, Marriel IE, Nery M (1976). Ecological distribution of *Spirillum lipoferum* Beijerinck. Canadian Journal of Microbiology 22: 1464-1473.
- Doria J (2010). Generalidades sobre las semillas: su producción, conservación y almacenamiento. Scielo. I Reserva Científica del departamento de Fitotecnia, Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas 13: 74-85.
- Drummond M, Walmsley J, Kennedy C (1996). Expression from the nifB promoter of *Azotobacter vinelandii* can be activated by NifA, VnfA, or AnfA transcriptional activators. Journal of Bacteriology 178: 788-792.
- Eckert B, Weber OB, Kirchhof T, Halbritter A, Stoffels M, Hartmann A (2001). *Azospirillum doebereineriae* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium associated with the C4-grass *Miscanthus*. International Journal Systematic and Evolutionary Microbiology 51: 17-26.
- Escobar C, Horna Y, Carreño C, Mendoza, G (2011). Caracterización de cepas nativas de *Azotobacter* spp. y su efecto en el desarrollo de *Lycopersicon esculentum* Mill. "tomate" en Lambayeque. Scientia Agropecuaria 2: 39-49.
- Ferrera - Cerrato R, Alarcón A (2007). Microbiología Agrícola. Hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico y planta – microorganismo, Ed. Trillas, México, D.F. 568 pp.
- Fuentes-Ramírez LE, Jiménez-Salgado T, Abarca-Ocampo IR, Caballero-Mellado J (1993). Aceto-

- bacter diazotrophicus*, an indoleacetic acid producing bacterium isolated from sugarcane cultivars of México. *Plant and Soil* 154: 145-150.
- García F, Muñoz H, Carreño C, Mendoza G (2010). Caracterización de cepas nativas de *Azospirillum* spp. y su efecto en el desarrollo de *Oryza sativa* L. "arroz" en Lambayeque. *Scientia Agropecuaria* 1: 107-116.
- Glickmann E, Dessaux Y (1995). A critical examination of the specificity of the Salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 61: 793-796.
- Koksunan S, Vichitphan S, Laopaiboon L, Vichitphan K, Han J (2013). Growth and cyanide degradation of *Azotobacter vinelandii* in cyanide-containing wastewater system. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 23: 572-578.
- Lara-Mantilla C, Oviedo-Zumaqué LE, Betancur-Hurtado CA (2011). Bacterias nativas con potencial en la producción de ácido indolacético para mejorar los pastos. *Revista Zootecnia Tropical* 29: 187-194.
- Lee S, Reth A, Meletzus D, Sevilla M, Kennedy C (2000). Characterization of a major cluster of *nif*, *fix* and associate genes in a sugarcane endophyte, *Acetobacter diazotrophicus*. *Journal of Bacteriology* 182: 7088-7091.
- Loper J, Scroth M (1986). Influence of bacterial source of indole - 3 - acetic acid on root elongation of sugar beet. *Physiology and Biochemistry* 76: 386-389.
- Loredo-Osti C, López-Reyes L, Espinosa-Victoria D (2004). Bacterias promotoras del crecimiento vegetal asociadas con gramíneas: Una revisión. *Revista TERRA Latinoamericana* 22: 225-239.
- Macías-Duarte R, Grijalva-Contreras RL, Robles-Contreras F (2012). Respuesta de la aplicación de estiércol y fertilizantes sobre el rendimiento y cantidad del chile jalapeño. *Biotecnia. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud* 14: 32-38.
- Mascarua-Esparza MA, Villa-González R, Caballero-Mellado J (1988). Acetylene reduction and indolacetic acid production by *Azospirillum* isolates from *Cactaceous* plants. *Plant and Soil* 106: 91-95.
- Mendoza-Villarreal R, Hernández-Florentino A, Ramírez-Rodríguez H, Molina-Abadía GS, Quezada-Martín MR (2009). Efecto de cepas de *Azospirillum* sp. en la productividad del pimiento morrón. En: *Agricultura sostenible* (Eds. Galdaméz GJ, Guevara HF, Soto PL, Vázquez GM). Vol. 6: 1:17. Universidad Autónoma de Chiapas. Ed. Sociedad Mexicana de Agricultura Sostenible, A. C. México.
- Molina S, Mendoza R, Torres A, Sifuentes D, Rojas B (2009). Germinación de semillas de tomate cherry (*Lycopersicon pimpinellifolium*) inoculadas con diferentes cepas de *Azospirillum* sp. XIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Ciencias Hortícolas A. C. 17-21 Agosto 2009, Torreón, Coahuila, México, p. 49.
- Molla AH, Shamsuddin ZH, Saud HM (2001). Mechanism of root growth and promotion of nodulation in vegetable soybean by *Azospirillum brasilense*. *Communications in Soil Science Plant Analysis* 32: 2177-2187.
- Moreno E (1984). Análisis físico y biológico de semillas agrícolas, 1°. Ed. Instituto de Biología, UNAM, México, D.F. 380 pp.
- Obando-Castellanos DM, Burgos-Zabala LB, Rivera-Botía DM, Rubiano-Garrido MF, Divan-Balandi VL, Bonilla-Buitrago RR (2010). Caracterización de bacterias diazotróficas asimbióticas asociadas al eucalipto (*Eucalyptus* sp.) en Codazzi, César (Colombia). *Acta Botánica Colombiana* 15: 107-120.
- Ogata K, Arellano C, Zuñiga D (2008). Efecto de diferentes bacterias aisladas de rizósfera de *Caesalpinia spinosa* en la germinación de diferentes especies vegetales cultivados. *Zonas áridas* 12: 137-153.
- Orozco-Jaramillo C, Martínez-Nieto P (2009). Evaluación de la inoculación con microorganismos fijadores de nitrógeno asimbióticos aislados de la rizósfera de *Pinus patula* en Colombia. *BOSQUE (Valdivia)* 30: 70-77.
- Patten CL, Glick BR (1996). Bacterial biosynthesis of indole 3-acetic acid. *Canadian Journal of Microbiology* 42: 207-220.
- Pedraza RO, Ramírez-Mata A, Xiqui ML, Baca BE (2004). Aromatic amino acid aminotransferase

- activity and indole-3-acetic acid production by associative nitrogen-fixing bacteria. FEMS Microbiology Letters 233: 15-21.
- Pogorelova VV, Bega ZT, Kurdo IK (2012). Interrelations of infusoria with *Azotobacter* and their influence on plants. Mikrobiology Z 74: 48-54.
- Rengel Z (1997). Root exudation and microflora populations in rhizosphere of crop genotypes differing in tolerance to micronutrient deficiency. Plant and Soil 196: 255-260.
- Reyes I, Álvarez L, El-Ayoubi H, Valery A (2008). Selección y evaluación de rizobacterias promotoras del crecimiento en pimiento y maíz. Bioagro 20: 37-48.
- Rodelas B, González-López J, Pozo C, Salmerón V, Martínez-Toledo MV (1999). Response of Faba bean (*Vicia faba* L.) to combined inoculation with *Azotobacter* and *Rhizobium leguminosarum* bv. viceae. Applied Soil Ecology 12: 51-59.
- Rojas-Méndez BA, Mendoza-Villarreal R, Mellado K, Torres-Tapia A, Vázquez-Siller LM (2009). Respuesta de trigo duro a la inoculación de *Azospirillum* sp en la germinación y vigor. Agricultura Sostenible 6, 20-22 Noviembre 2009, México, pp. 127-132.
- Sethi SK, Adhikary SP (2009). Efficacy of region specific *Azotobacter* strain on vegetative growth and yield of *Solanum melongena*, *Lycopersicon esculentum* and *Capsicum annum*. Journal of Pure and Applied Microbiology 3: 331-336.
- SIAP-SAGARPA (2012). Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/index.php> (15 Julio 2013).
- Shigueru-Okumura R, De Cinque-Mariano D, Dallacort R, Nogueira-De Albuquerque A, Da Silva-Lo-bato AK, Silva-Guedes EM, De Oliveira-Neto CF, Oliveira -Da Conceicao HE, Ruffei-Alves GA (2013). *Azospirillum*: a new and efficient alternative to biological nitrogen fixation in grasses. Journal of Food Agriculture and Environment 11: 142-1146.
- Suman A, Gaur A, Shrivastava AK, Yadav RL (2005). Improving sugarcane growth and nutrient uptake by inoculating *Gluconoacetobacter diazotrophicus*. Plant Growth Regulation 47: 155-162.
- Trân-Van V, Berge O, Ngô-Kê S, Balandreau J, Heulin T (2000). Repeated beneficial effects of rice inoculation with a strain of *Burkholderia vietnamiensis* on early and late yield components in low fertility acids of Vietnam. Plant and Soil 218: 273-284.
- Tsavkelova EA, Klimova SY, Cherduntseva TA, Netrusov AI (2006). Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. Applied Biochemistry and Microbiology 42: 117-126.
- Vessey JK (2003). Plant growth promoting rhizobacteria as fertilizers. Plant and Soil 255: 571-586.
- Whipps JM (2001). Microbial interactions and biocontrol in the rizosphere. Journal of Experimental Botany 52: 487-511.
- (Aceptado para publicación el 8 de julio de 2014)